

ДЕТЕКТИРОВАНИЕ СИГНАЛОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПРОБ В РЕАКТОРАХ МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВ

Тарасова А.В.¹

Научные руководители – канд. техн. наук, науч.сотр. Есикова Н.А.², канд. техн.
наук, науч.сотр. Белов Д.А.²

¹Университет СПб ГУАП

²ИАП РАН

belov.da@list.ru

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках выполнения работ по Государственному заданию № 075-00440-26-00.

Введение

Микрофлюидные технологии позволяют существенно сократить объёмы проб, время анализа и расход реагентов при проведении молекулярно-генетических исследований, в том числе, полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) [1]. Ключевым этапом ПЦР-РВ является высокочувствительное детектирование интенсивности флуоресценции красителей, связанных с фрагментами ДНК. Коммерческие приборы для ПЦР-РВ ориентированы, как правило, на работу с пробирками или планшетами и не обеспечивают регистрацию сигнала на всей площади микрофлюидного чипа с уникальной топологией [2]. Актуальна разработка простой, чувствительной и универсальной оптической системы, способной регистрировать флуоресценцию одновременно на всей площади чипа независимо от его топологии.

Основная часть

В работе разработана и исследована экспериментальная установка для детектирования флуоресцентных сигналов в реакционных камерах микрофлюидных чипов на основе анализа цифровых изображений. Принципиальная схема установки включает светодиод ($\lambda_{\text{ср}} = 480$ нм, $P = 3$ Вт), однополосный возбуждающий фильтр (467–498 нм), линзы, диафрагму и систему перемещения в трёх проекциях для регулирования поля возбуждения. Регистрация эмиссии осуществляется монохромной КМОП-камерой Basler acA 1920-50gm (сенсор Sony IMX174LLJ-C, разрешение 1920×1200 пикселей) с объективом Computar 2/3" 16 mm F2.8 и эмиссионным фильтром (510–530 нм). Такая конфигурация обеспечивает эффективное возбуждение флуоресцентных красителей без перекрытия спектра эмиссии и возможность изменения размера поля зрения.

Исследование разработанной установки проводилось на микрофлюидных чипах из поликарбоната Novattro (габариты 28×38 мм, 4 реакционные камеры объёмом 14 мкл каждая) [3]. В качестве модельного образца использовались растворы флуоресцеина изотиоцианата (FITC) в 0,1 Н NaOH с концентрациями от $0,6 \cdot 10^{-7}$ до $0,3 \cdot 10^{-6}$ М, полученные последовательным разбавлением. Сравнение установки с коммерческим прибором АНК-48 (ИАП РАН, Россия) оценивалось по отношению сигнал/шум (SNR). Результаты показали, что значения SNR предложенной системы составляют 50–65 % от значений коммерческого прибора при идентичных концентрациях FITC. Дополнительно выполнена оценка изменения значений SNR при изменении размера поля зрения, детектируемого установкой.

Выводы

Разработанная экспериментальная установка позволяет эффективно детектировать флуоресцентные сигналы во всех реакционных камерах микрофлюидного

чипа одновременно и по чувствительности сравнима с коммерческими приборами для ПЦР-РВ. Основными преимуществами предложенного решения являются универсальность применения к чипам любой топологии, возможность регистрации сигнала на большой площади и простота реализации. Полученные результаты подтверждают перспективность использования установки для проведения ПЦР-РВ в микрофлюидном формате.

Литература

1. Chen S., Sun Y., Fan F., Chen S., Zhang Y., Zhang Y., Meng X., Jin-Lin M. Present status of microfluidic PCR chip in nucleic acid detection and future perspective // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2022 Vol. 157 Art. 116737. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116737>.
2. Yun S.H., Park J.S., Koo S.B., Park C.Y., Kim Y.S., Kim J.D. Cost-effective multiplex fluorescence detection system for PCR chip // *Sensors*. 2021 Vol. 21, no. 21 Art. 6945. <https://doi.org/10.3390/s21216945>.
3. Есикова Н.А., Гермаш Н.Н., Евстапов А.А. Оперативное изготовление микрочипов для ПЦР-анализа из полимерных материалов в лабораторных условиях // *Научное приборостроение*. 2020 Vol. 30, no. 4 P. 27–31. <https://doi.org/10.18358/np-30-4-i2126>.